

**Beobachtungen zum Verhalten von Enzymen und
Elektrolyten im Serum bei der angiokardiographischen
Untersuchung von Kindern mit Herzfehlern**

von

Jutta Lüder

aus

Potsdam-Babelsberg

Aus der Kinderklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. A. Windorfer

**Beobachtungen zum Verhalten von Enzymen und
Elektrolyten im Serum bei der angiokardiographischen
Untersuchung von Kindern mit Herzfehlern**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Jutta Lüder

aus

Potsdam-Babelsberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan:	Prof. Dr. H. Valentin
Referent:	Prof. Dr. H. Gutheil
Korreferent:	Prof. Dr. A. Windorfer
Tag der mündlichen Prüfung:	4. 3. 1970

A Einleitung

In den letzten Jahren ist durch viele Untersuchungen die Aktivität verschiedener Enzyme z. B. der Serum-Glutamin-Oxalessigsäure-Transaminase (SGOT), der Serum-Glutamin-Brenztraubensäure-Transaminase (SGPT) der α -Hydroxybuttersäuredehydrogenase (α -HBDH) und der Lactat-Dehydrogenase (LDH) geprüft worden. Dabei ergab sich für die Normalwerte im Kindesalter eine deutliche Altersabhängigkeit verschiedener Enzyme. Sie liegen bei Neugeborenen wesentlich höher. (3, 5, 8) Nach Operationen (13) und im Verlauf verschiedener Krankheiten, wie Herz-, Leber- und Muskelerkrankungen, wurde ein Anstieg der Enzymaktivität beobachtet (4). Als Ursache hierfür werden Zellpermeabilitätsstörungen bzw. -untergang und die damit verbundene Freisetzung von Fermenten in das Blut angegeben. Besonders beim Herzinfarkt steigt die Serumaktivität von GOT, CPK, LDH, α -HBDH und anderer Enzyme an, da diese vermehrt im Herzmuskel vorkommen. (12, 15, 16)

Bei der hier durchgeführten Arbeit wurde die Frage gestellt, ob die Angiokardiographie während der Herzkatheteruntersuchung einen Einfluß auf die Aktivität der GOT, GPT, α -HBDH und LDH hat, und inwieweit die Elektrolyte Calcium und Kalium im Serum dabei in ihrer Konzentration verändert werden.

B Untersuchungsmethode

Aus diagnostischen Gründen wurde bei 55 Kindern im Alter von 1 1/12 bis zu 15 7/12 Jahren eine Herzkatheteruntersuchung mit gleichzeitiger Angiokardiographie durchgeführt. Bis auf 4 Kinder, bei denen kein pathologischer Befund festgestellt werden konnte, hatten alle einen angeborenen Herzfehler. Zwei Kinder waren cyanotisch (Fallotsche Tetralogie und Fallotsche Pentalogie).

Die medikamentöse Vorbehandlung wurde mit Atropin und Dolantin vorgenommen, die Herzkatheteruntersuchung und die Angiokardiographie selbst in Trapanalnarkose.

Die Angiokardiographie wurde nach Beendigung der Katheteruntersuchung durchgeführt. Die Menge des injizierten Kontrastmittels Conray 70 R^① betrug im Durchschnitt 1 ml/kg Körpergewicht.

Die Blutabnahme erfolgte jeweils nach Einführung des Katheters in den rechten Vorhof, sowie unmittelbar vor und nach der Angiokardiographie.

Das Blut wurde sofort in dafür bereitgestellte Röhrchen gefüllt und in den folgenden 4-8 Stunden, spätestens aber nach 24 Stunden verarbeitet. In diesen Fällen wurde es im Kühlschrank bei 4° C aufbewahrt. Die Zentrifugation erfolgte bei 3500 U/min.

① Fa. Byk-Gulden, Konstanz

Versuchsansätze

1) für Enzymbestimmungen:

a) Transaminase GOT ^②

In ein Reagenzglas wurden 3,00 ml 0,1M Phosphatpuffer (pH=7,4; 0,04 M Aspartat), 0,05 ml Coenzym-lösung (0,012 M NADH), 0,05 ml Enzymmischung aus 0,25 mg MDH/ml; 0,25 mg LDH/ml und 0,50 ml hämolysefreies Serum gegeben. Das Gemisch wurde ca. 5 Min. bei 25° C im Wasserbad stehen gelassen und nach Zugabe von 0,1 ml (0,25 M) α -Ketoglutarat in eine 10 mm Küvette gegossen. Die Messung erfolgte im Eppendorffphotometer bei 366 nm im temperierbaren Küvettenhalter bei 25° C. Die Extinktion wurde abgelesen und gleichzeitig die Stoppuhr gestartet. Nach genau 1,2 und 3 Minuten wurde das Ablesen wiederholt. Der aus den Extinktionsdifferenzen pro Min. ($\Delta E/\text{min}$) gebildete Mittelwert ging in die Berechnung ein.

$\Delta E/\text{min} \times 2240 = \text{Millieinheiten (mU)/ml Serum}$

Die mit dieser Methode erhaltenen Normalwerte betragen beim Erwachsenen bis zu 12 Millieinheiten, bei Kindern, nach eigenen Untersuchungen, bis maximal 30 mU, je nach Alter.

b) Transaminase GPT ^②

In ein Reagenzglas wurden 3,00 ml 0,1M Phosphatpuffer (pH=7,4; 0,08 M DL-Alanin), 0,05 ml Coenzym-lösung (0,012 M NADH), 0,05 ml LDH-Lösung (0,25 mg LDH/ml) und 0,50 ml hämolysefreies Serum gegeben.

^② Fa. Boehringer & Söhne GmbH, Mannheim

Nach ca. 5 Minuten bei 25° C gab man noch 0,1 ml α -Ketoglutarat (0,25 M) dazu und goß das Gemisch in eine 10 mm Küvette.

Die Messung und Berechnung erfolgte genau wie bei der Transaminase GOT.

c) α -Hydroxybutyrat-dehydrogenase

In ein Reagenzglas wurden 3,00 ml Puffersubstratlösung (0,05 M Phosphatpuffer, pH=7,4), 0,10 ml Coenzymlösung (0,004 M NADH) und 0,10 ml frisches hämolysefreies Serum gegeben. Das Gemisch wurde ca. 20 Minuten bei 25° C im Wasserbad stehen gelassen und nach Zugabe von 0,10 ml 0,10 M α -Ketobutyrat in eine 10 mm Küvette gegossen.

Die Messung erfolgte wie bei den Transaminasen.

Die Aktivität des Enzyms wird berechnet nach:

$\Delta E/\text{min} \times 10\,000 = \text{Millieinheiten (mU)}/\text{ml Serum}.$

Die Normalwerte liegen hier bis zu 140 Millieinheiten im ml Serum bei Erwachsenen, bei Kindern werden je nach Alter bis zu 200 mU gefunden.

d) Laktatdehydrogenase

In ein Reagenzglas wurde 3,00 ml 0,05 M Phosphatpuffer (pH=7,5; 0,0003 M Pyruvat), 0,05 ml Coenzymlösung (0,009 M NADH) und 0,10 ml frisches hämolysefreies Serum gegeben. Das Gemisch wurde in eine 10 mm Küvette gegossen. Die Extinktion wurde nach 1,2 und 3 Minuten abgelesen und aus den Extinktionsdifferenzen/min ($\Delta E/\text{Min}$) die Aktivität der LDH berechnet:

$\Delta E/\text{min} \times 9550 = \text{Millieinheiten (mU)}/\text{ml Serum}$

Die Normalwerte betragen bis zu 195 Millieinheiten im ml Serum bei Erwachsenen, bei Kindern werden je nach Alter bis zu 350 mU gemessen.

2) für Elektrolytbestimmungen:

a) Calcium

In einen auf 20 ml geeichten Meßkolben wurden 1 ml Serum und 19 ml Aqua dest. gemischt. Die Haupteichlösung und die Ca-Blindlösung wurden im gleichen Mengenverhältnis (1:20) angesetzt.

Die Messungen wurden mit dem Zeiss Flammenphotometer PF 5 durchgeführt.

Nach Einschalten des Calcium-Filters wurden am Gerät mit Hilfe der Ca-Blindlösung der Nullpunkt und mit Hilfe der Haupteichlösung die Eichmarke 10 mg/100 ml bzw. 5 maeq/l eingestellt. Dann zerstäubte man die Probe und las nach 20 Sekunden den Wert an der Skala ab.

b) Kalium

Für die Kalium-Bestimmung gilt die gleiche Versuchsanordnung wie für Calcium. Nur benutzte man hier den K-Filter und die K-Blindlösung. Die Eichmarke wurde bei Kalium auf 15 mg/100 ml bzw. 3,83 maeq/l eingestellt.

C Ergebnisse eigener Untersuchungen

In der Tabelle 1 sind die Ergebnisse einer statistischen Berechnung aufgezeigt, die darüber angestellt wurden, ob eine Änderung der Enzymaktivitäten oder der Elektrolyte im Serum vor und nach der Angiokardiographie signifikant zu sichern ist. Dabei konnte weder für die Transaminasen, für LDH und α -HBDH, noch für Calcium und Kalium durch die Angiokardiographie ein signifikant unterschiedlicher Wert festgestellt werden. (Tabelle 1)

Tabelle 2 zeigt, bei wievielen der vorgenommenen Untersuchungen die Enzymaktivitäten und der Elektrolytspiegel abfallen, zunehmen oder gleichbleiben. Es wurden nicht nur die Werte vor und nach der Angiokardiographie (A) in Beziehung gesetzt, sondern auch die Werte nach Einführung des Katheters in den rechten Vorhof mit den Werten vor Beginn der Angiokardiographie (B). (Tabelle 2)

Es ergab sich, daß bei der GOT die Enzymaktivität durch die Angiokardiographie in 22 Fällen um durchschnittlich 2,1 mU (Millieinheiten) sinkt, in 12 Fällen um durchschnittlich 1,7 mU steigt und in 15 Fällen gleich bleibt. Das Verhalten der GOT zu Beginn des Herzkatheters unterscheidet sich davon nur geringfügig.

Die GPT im Serum fiel durch die Angiokardiographie 26 mal ab, 23 mal blieb sie gleich und nur 5 mal stieg sie an. Die Schwankungsbreite liegt durchschnittlich bei $\pm 1,6$ mU. Der Vergleichswert vor der Angiokardiographie sinkt dagegen nur 15 mal, bleibt aber 33 mal gleich.

Bei der α -HBDH-Aktivität liegen die Verhältnisse zu Beginn des Katheters ähnlich (23 mal sinkend, 15 mal steigend und 17 mal gleichbleibend). Durch die Angiokardiographie wird allerdings in 39 Fällen ein Abfall der α -HBDH festgestellt, 7 mal kommt es zu einem Anstieg und 9 mal blieb der Wert gleich. Die Werte sind dabei um

durchschnittlich 11,4 mU gesunken bzw. um 18,5 mU gestiegen.

Die LDH unterscheidet sich insofern von den anderen Enzymen und den Elektrolyten, als ihr durchschnittlicher Aktivitätsabfall bei 26,1 mU (maximal 95,4 mU) in 33 Fällen liegt, während 15 mal ein Anstieg um nur 16,6 mU und 5 mal keine Änderung zu messen ist. Bei den Werten zwischen Einführung des Herzkatheters in den rechten Vorhof und dem Beginn der Angiokardiographie sinken 29 Werte, 20 steigen und 4 bleiben gleich. Die Schwankungsbreite ist hier wesentlich geringer.

Die Elektrolytkonzentration für Calcium fällt nach der Angiokardiographie 50 mal ab und steigt nur 5 mal an, die Differenz ist durchschnittlich $\pm 0,4$ maeq/l. Ein gleichbleibender Wert kommt bei keinem Fall vor. Zwischen der Einführung des Katheters und der Angiokardiographie zeigt das Serum-Calcium dagegen in 39 Fällen fallende Tendenz, steigt 13 mal an und bleibt 3 mal gleich.

Der Kaliumwert sinkt nach der Angiokardiographie in 30 Fällen um durchschnittlich 1,8 maeq/l, in 21 Fällen steigt er um durchschnittlich 2,8 maeq/l und nur in 4 Fällen gibt es keine Veränderung. Zu ähnlichen Ergebnissen kommt man bei Vergleich der bei Einführung des Herzkatheters gefundenen Werte mit denen zu Anfang der Angiokardiographie.

D Besprechung der Ergebnisse

Bei den hier durchgeführten Untersuchungen konnte man einen Abfall des Calcium-Spiegels im Verlauf der Herzkatheteruntersuchung und der Angiokardiographie feststellen, wobei der Mittelwert zu Beginn des Katheters bei 4,45 maeq/l lag, vor der Angiokardiographie bei 4,35 maeq/l und nach der Angiokardiographie deutlich auf durchschnittlich 4,07 maeq/l sank. Zwar war der durchschnittliche Abfall durch die Angiokardiographie von 0,3 maeq/l im Bereich der physiologischen Schwankungsbreite, aber es lagen einzelne Werte mit 3,5 maeq/l am Rande der Norm. Eine Abhängigkeit zur Art der Erkrankung konnte nicht beobachtet werden. Durch die Angiokardiographie kam es also zu einem, wenn auch nicht signifikanten, Abfall des Calcium-Spiegels; bei 55 Meßwerten waren 50 erniedrigt.

Ob dieser Calciumabfall mit einer vorübergehenden Verdünnung des Serums durch das Kontrastmittel erklärt werden kann, ist sehr fraglich. Es handelt sich hier um Untersuchungen des Gesamt-Calciums und nicht des ionisierten Anteils.

Calcium spielt bei der Permeabilität der Grenzmembran und bei der neurologischen Erregbarkeit eine lebensnotwendige Rolle. Der normale Serumspiegel des Calciums beträgt 4,5 - 5 maeq/l und wird von den Antagonisten Parathormon-Calcitonin geregelt (6). Die Konzentrationsunterschiede, die hier gefunden wurden, sind aber so gering, daß sie sich klinisch nicht manifestieren können.

Kalium greift ebenfalls bei der Permeabilität der Grenzmembran und bei der Erregungsübertragung am Nerven ein. Es ist hauptsächlich in den Körperzellen zu finden, besonders in den Erythrozyten, aber auch im Plasma. Der Normalwert liegt bei 3,83 maeq/l.

Die in dieser Untersuchungsreihe gemessenen Werte lagen

durchschnittlich bei 3,5 maeq/l und waren damit niedriger als üblich. Zu diskutieren wäre ein Zusammenhang mit der Narkose, bei der die Erregbarkeit des Nerven und so der Acetylcholinzerfall herabgesetzt ist. Die Beziehung zwischen Kalium und Acetylcholinzerfall wurde von WELLER festgestellt (14). Zu einem minimalen Kalium-Anstieg im Mittelwert kam es durch die Angiokardiographie. Möglicherweise kommt der Druck, mit dem das Kontrastmittel eingespritzt wird, einer momentanen Hypertonie gleich, bei der wiederum der Kalium-Spiegel steigt und der Calcium-Spiegel fällt (6). Der weitaus größere Teil der Arbeit wurde dem Verhalten der Enzyme und deren Beeinflussung durch die Angiokardiographie gewidmet.

Dabei zeigen die Transaminasen ein relativ konstantes Verhalten, wobei Abweichungen sowohl nach oben als auch nach unten auftraten. Sie lagen jedoch innerhalb der physiologischen Schwankungsbreite. Ein Anstieg, wie ihn BURCKHARD (2), ADROUNY (1) oder KOCHSIEK (7) bei der Blutabnahme längere Zeit nach der Angiokardiographie oder dem Herzkatheter gefunden haben, war hier nicht zu erwarten, da es sich nach der Vermutung dieser Autoren wahrscheinlich um einen Enzymverlust der Leber handelt, der erst später auftritt.

Daß durch die geringe Läsion des Herzmuskels als Folge der Bewegung des Katheters keine Änderung der Transaminasen auftritt, ist schon bei vorhergegangenen Untersuchungen festgestellt worden (11).

Der α -HBDH-Aktivitätsabfall durch die Angiokardiographie, der wiederholt beobachtet wurde, war nicht signifikant. Ein stärkerer Enzymaktivitätsabfall durch die Angiokardiographie war dagegen bei der LDH zu finden. In 33 von 55 Fällen sank die Aktivität dieses Enzyms. Der Enzymverlust ist hier, wie wahrscheinlich auch bei der α -HBDH im

geringen Maße durch eine Blutverdünnung infolge der Kontrastmittelinjektion zu erklären. Diesen stärkeren Abfall der LDH müssen aber noch andere Faktoren verursachen. ENGELHARDT (4) fand heraus, daß eine Milieuänderung (besonders im pH-Bereich) zur Dissoziation des Enzym-Coenzym-Substrat-Komplexes und damit zu einem Aktivitätsverlust führen kann. Möglicherweise ist solch eine Milieuänderung durch das Kontrastmittel ausgelöst worden. Diese besteht aber nur vorübergehend und kann schnell ausgeglichen werden. Ein Zusammenhang zwischen LDH-Aktivitätsverlust und der Herzerkrankung, dem Alter des Kindes oder der Menge des Kontrastmittels konnte nicht gefunden werden.

Eine Cyanose, die durch eine ungenügende arterio-venöse O_2 - Sättigung auftritt, übt keine charakteristische Änderung auf das Fermentmuster aus. Kommt es allerdings zu einer Leberstauung, kann man eine Steigerung der Transaminasen LDH und α -HBDH im Serum messen; nach unseren Erfahrungen liegen die Werte um 40 - 60 % höher als die altersentsprechenden Normalwerte. Auch eine Beeinflussung der Enzymaktivität durch die Narkose oder den Eingriff kann nach den Untersuchungen von SCHMIDT (10) und WIEMERS (14) wahrscheinlich ausgeschaltet werden.

E Zusammenfassung

Bei 55 Kindern ist aus diagnostischen Gründen eine Herzkatheteruntersuchung mit anschließender Angiokardiographie vorgenommen worden. Vor und nach der Angiokardiographie wurden die Transaminasen GOT, GPT, die LDH und die α -HBDH, sowie Calcium und Kalium im Blutserum untersucht mit der Frage, ob signifikante Änderungen dieser biologischen Parameter zu finden sind. Dabei war nur bei der LDH ein starker, aber nicht signifikanter Abfall zu beobachten, als dessen Ursache eine vorübergehende pH-Änderung durch das Kontrastmittel zu diskutieren wäre.

Bei der Untersuchung des Calciums ist zu beobachten, daß es 50 mal zu einem Abfall im Serum kam.

Tabelle 1

	Zahl der Untersuchungen	t	P
GOT	51	1,00	0,5
GPT	54	0,99	0,2
LDH	53	1,10	0,5
α-HBDH	54	0,99	0,2
Ca	55	1,00	0,2
K	55	0,95	0,5

t wurde berechnet nach der Formel:

$$t = \frac{M_d}{\sqrt{\frac{d^2 - \left(\frac{d}{n}\right)^2 \cdot n}{n(n-1)}}$$

d = Differenzwert

M_d = Mittelwert der Differenzen

n = Zahl der Untersuchungen

Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse der stat. Vergleichsuntersuchung der Fermente und Elektrolyte vor und nach der Angiokardiographie.

Tabelle 2

Angaben über die Wertänderungen durch den Herzkatheter
und die Angiokardiographie

Wert- änderung	<u>GOT</u>		<u>GPT</u>		<u>α-HBDH</u>		<u>LDH</u>	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Abfall	22	21	26	15	39	23	33	29
Anstieg	12	14	5	6	7	15	15	20
Keine Änderung	17	16	23	33	9	17	5	4

<u>Ca</u>		<u>K</u>	
A	B	A	B
50	39	30	32
21	5	21	21
-	3	4	2

A = Differenzwert = vor Beginn -nach Beendigung der
Angiokardiographie

B = Differenzwert = nach Einführung des Katheters in
den rechten Vorhof -Vor Beginn
der Angiokardiographie

F Literatur

1. Adrouny, Z.A.; Stephenson, M.J.; Straube, K.R.; Dotter, C.T.
Griswold, H.E. *Circulation* 27, 565-70 (1963)
Effect of cardiac catheterization and angio-
cardiography on the serum glutamic oxaloacetic
transaminase
2. Burckhardt, D.; Vera, C.A.; LaDue, J.S.; Steinberg, I.
Amer. J. Roentgen 102, 446-50 (1968)
Enzym activity following angiography
3. Christiansson, G. *Acta paediat. (Uppsala)* Suppl. 118,
46 (1958)
Some Characteristics of the Blood Plasma
Chemistry in Newborns
4. Engelhardt, A. *Med. Welt* 16, 839-46 (1966)
Das Enzymverteilungsmuster des menschlichen
Serums und seine Änderung bei verschiedenen
Krankheitszuständen
5. Haug, H.; Gathof, A.G. *Blut* XIII, 366-73 (1966)
Über die Altersabhängigkeit der Enzymaktivität
der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Lactatde-
hydrogenase und Malatdehydrogenase im mensch-
lichen Erythrozyten und im Plasma
6. Hioco, D. *Vie mèd.* 45, 19-24 (1966)
Physiologie de la régulation Calc mique et
calciurique
7. Kochsiek, K.; Engelhardt, P. *Klin. Wschr.* 43, 849-50
(1965)
Über Aktivitätsänderungen von Enzymen im Blut-
serum nach Herzkatheteruntersuchungen
8. Kove, S.; Goldstein, St.; Wroblewski, F. *Ped.* 20, 584-589
(1957)

Activity of glutamic-oxaloacetic transaminase
in the serum in the neonatal period

9. Rehn, J.; Kohnlein, E.; Graner, S.; Zeller, A. Med. Welt 347-353 (1960)
Über den Einfluß chirurgischer Eingriffe auf
die Fermentaktivität im Serum
10. Schmidt, D.; Fichler, J.; Hammer, D.; Gabsch, H. Chr. Anaesthesist 16, 33-27 (1967)
Einfluß der Narkose auf Enzyme im Blutserum
11. Sitzmann, F. C.; Gutheil, H. Z. Kreislaufforschung 55, 1218-24 (1966)
Serumenzymaktivität vor und nach Herzkatheter-
untersuchung bei Kindern
12. Sitzmann, F. C. Therapiewoche 17, 1054-56 (1967)
Praktische Bedeutung der Serumenzymdiagnostik
13. Stark, G.; Claudé, R. Klin. Wschr. 41, 1062-1066 (1963)
Der Einfluß gynäkologischer Operationen auf
die Transaminasen (GOT, GPT) und Dehydroge-
nasen (IDH, MDH) im Serum
14. Weller, J. M.; Taylor, I. M. Annl. int. Medicine 33, 607-612 (1950)
Some Problems of Potassium Metabolism
15. Wiemers, K. in Leberfunktion und operativer Eingriff
Just, O. H. Heidelberg, Georg Thieme Verlag
Stuttgart (1964) 37-47 Narkotika und Leber-
funktion
16. Wroblewski, F.; LaDue, J. S. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 90, 210-13 (1955)
Lactic Dehydrogenase Activity in Blood

Mein Lebenslauf

Ich wurde am 14. Februar 1944 als Tochter des kaufmännischen Angestellten Wilhelm Lüder und seiner Ehefrau Elli, geb. Heuer in Potsdam-Babelsberg geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Babelsberg bis 1955 und bis 1956 in Hamburg trat ich in die Oberrealschule in Oldenburg i. Oldbg. ein, wo ich im Februar 1964 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1964 immatrikulierte ich mich an der Universität Erlangen-Nürnberg für das Studium der Medizin. 1966 bestand ich das Physikum und im Februar 1970 schloß ich mein Studium mit dem Staatsexamen ab.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
